

#2



**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 59 619.0

Anmeldetag: 18. Dezember 2002

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

Anmelder/Inhaber: metaGen Pharmaceuticals GmbH, 13347 Berlin/DE

Bezeichnung: Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz
zur Tumorbehandlung

IPC: A 61 K, A 61 P

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 19. Februar 2004
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

BEST AVAILABLE COPY



Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Tumorbehandlung.

5 Gebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von TRPM8 modulierenden Substanzen zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen. Die
10 Erfindung betrifft desweiteren solche Zusammensetzungen, sowie einen Behandlungsplan.

Hintergrund der Erfindung und Stand der Technik

15

Folgend werden die Bezeichnungen Trpp8 und TRPM8 synonym verwendet.

Die Kalzium Homeostase regelt wichtige Zellfunktionen, wie
20 Proliferation, Differenzierung, Invasion, Migration, Angiogenese und Apoptose. Bei Prostatakrebs spielt Kalzium eine wichtige Rolle in der Tumorbildung. Es ist jedoch wenig über die Kalziumkanäle und membrangebundenen Plasma Rezeptoren bekannt, die den Eintritt und Austritt von Kal-
25 zium in und aus intrazellulären Kalziumreservoirs in Prostatatumorzellen regeln.

Trpp8 ist in der Literaturstelle Tsavaler et al., Cancer Res, 61:3760-3769 (2001) als Prostata-spezifisches Gen
30 beschrieben worden, welches vorwiegend in humanen Prostatatumoren exprimiert wird. Trpp8 wird signifikant hochreguliert. In Androgen-abhängigen Prostata Zelllinien wird gemäß dieser Literaturstelle Trpp8 gefunden, nicht jedoch

in Androgen-unabhängigen Zelllinien, welche auch nicht PAP (prostate acid phosphatase) und PSA (prostate specific antigen) exprimieren. Es wird vermutet, daß Trpp8 als Kalzium Kanal Protein funktioniert.

5

Trp Proteine sollen zu den sogenannten store operated calcium channels (SOC) bzw. capacitative calcium entry channels (CCE) gehören. In LNCaP Zellen konnte eine Involvierung in der Apoptose gezeigt werden (Wertz et al., J Biol Chem, 275:11470-11477 (2000)).

Die 5694 bp Trpp8 cDNA hat einen 3312 bp offenen Leserahmen, welcher für ein 1104 Aminosäuren Protein mit angeblich sieben transmembranen Domänen codiert mit einem Molekulargewicht von ca. 127.500 Da.

Trpp8 Sequenzen sind in den Literaturstellen US-6,194,152, US-6,183,968, WO-99/46374, WO-99/09166, WO-01/25273, WO-01/25272, WO-01/34802, WO-01/46258, WO-01/42467 und WO-01/1633 beschrieben. Die Literaturstellen US-6,194,152 und WO-01/51633 offenbaren die Verwendung der darin genannten Sequenzen zur Detektion von Tumorzellen sowie verschiedener Substanzklassen in allgemeiner Weise zur Behandlung von Prostatakrebs.

25

Menthol ist ein sekundärer Pflanzenstoff, der natürlicherweise als Monoterpen in der Pfefferminze vorkommt und den Hauptbestandteil des Pfefferminzöls ausmacht. Menthol induziert Kälteempfinden auf der Haut sowie in Mund und Nase durch Anregung bestimmter Nervenzellen. Eine weitere, ein Kälteempfinden auslösende Substanz ist Icilin. Beide Substanzen aktivieren periphere Nervenzellen, wobei der Ionenkanal TRPM8 selektiv aktiviert wird und Ionen, wie

Ca²⁺ und Na⁺ in die Zelle einfließen können. Aus den Literaturstellen McKemy et al., Nature 416(6876):52-52 (2002) und Peier et al., Cell 108(5):705-715 (2002) ist es bekannt, dass das human-orthologe TRPM8 in Mäusen und Ratten als Mentholsensor funktioniert. Gleiches ist für Icilin bekannt. Ferner fungiert TRPM8 als Kälterezeptor in einem Temperaturbereich von 8 °C bis 25 °C.

Eine physiologische Funktion von TRPM8 in Tumorgewebe ist unbekannt.

Insbesondere Prostatakrebs ist eine mit zunehmendem Alter mit beachtlicher Inzidenz auftretende Erkrankung. Bislang wird Prostatakrebs im wesentlichen pathologisch diagnostiziert und meist durch Entfernung der Prostata behandelt. Die Entfernung der Prostata hat verschiedene nachteilige Effekte auf einen Patienten. Eine verbesserte Diagnose und Behandlung dieser Krebsart, insbesondere ohne das Erfordernis einer Entfernung der Prostata, ist daher in hohem Maße wünschenswert.

25 Technisches Problem der Erfindung

Der Erfindung liegt das technische Problem zugrunde, pharmazeutische Zusammensetzungen zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere Prostatakrebs-Erkrankungen, anzugeben.

Grundzüge der Erfindung sowie bevorzugte Ausführungsbeispiele.

Zur Lösung dieses technischen Problems lehrt die Erfindung die Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere von Prostatakrebs, in welchen TRPM8 überexprimiert ist.

10 Die Erkenntnis beruht auf der überraschenden Erkenntnis, dass in Tumoren, die eine erhöhte Expression des Ionenkanals TRPM8 aufweisen, die Aktivierung des TRPM8 das Tumorstadium 15 wachstum inhibiert bzw. verlangsamt. Insbesondere eine permanente Aktivierung destabilisiert spezifisch den Ionenhaushalt der Tumorzellen, welche dadurch in die Apoptose getrieben werden.

Bevorzugt eingesetzt wird eine Substanz, welche ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus "Menthol, Menthyl-20 derivate, Pyrrolidinyl-Derivate des Furanon, Icilin, Icilin-Derivate und Mischungen dieser Substanzen". Der Begriff Menthol umfaßt alle Enantiomere sowie Mischungen der Enantiomere. Entsprechendes gilt für andere genannte Substanzen bzw. Substanzklassen mit Symmetriezentren. Desweiteren 25 können auch strukturell von den vorstehenden Substanzen verschiedene Substanzen verwendet werden, wobei als wesentliches Auswahlkriterium die Aktivierung von TRPM8 anzusehen ist. Beispiel für eine solche verschiedene Substanz ist 2-Isopropyl-N-2,3-trimethylbutyramid.

30

Menthyl-30 derivate können insbesondere gemäß Formel I aufgebaut sein, wobei ... eine Einfach- oder Doppelbindung sein kann, wobei ... eine Einfachbindung oder keine Bindung

sein kann, wobei nicht dargestellte Valenzen des Kohlenstoffs mit -H abgesättigt sind, wobei R1 = -H, -OH, -SH, -NR11R12, C1-C10-Alkyl, -Aralkyl oder -Aryl, beispielsweise Methyl oder Ethyl, wobei R11 und R12 gleich oder verschieden und -H, C1 bis C10-Alkyl, -Aralkyl oder -Aryl sein können, wobei R2 = -OR21, -SR21, -CO-R22, oder -O-CO-R23 sein kann, wobei R21 = -H, C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, oder C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, nicht, einfach oder mehrfach substituiert, insbesondere -OH oder -SH substituiert, sein kann, wobei R22 = -H, C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, oder C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, nicht, einfach oder mehrfach substituiert, insbesondere -OH oder -SH substituiert, oder -NR221R222 sein kann, wobei R221 und R222 gleich oder verschieden und -H, C1 bis C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, oder C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, sein können, wobei R23 = -H, C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, oder C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, nicht, einfach oder mehrfach substituiert, insbesondere -OH oder -SH substituiert, sein kann. Beispiele für Menthylderivate sind. Isopulegol (... = Doppelbindung, ... = keine Bindung, R2 = -OH), Menthoxypropan-1,2-diol (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -H, R2 = -O-CH2-CHOH-CH2-CH2OH), N-Ethyl-p-menthan-3-carboxamid.

25 (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -H, R2 = -CO-NH-CH2-CH3) und p-Menthan-3,8-diol (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -OH, R2 = -OH). Weitere Beispiele sind 3-Menthyl-3,6-dioxaheptanoat, 3-Menthylmethoxyacetat, 3-Menthyl-3,6,9-trioxadecanoat,

30 3-Menthyl(2-hydroxyethoxy)acetat und Menthyl-11-hydroxy-3,6,9-trioxaundecanoat (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -H, R2 = C1-C10-Alkylpolyether mit 1 bis 5 Ethergruppen, nicht oder

-OH substituiert). Ein weiteres Beispiel ist Menthylactat (... = Einfachbindung, ... = Einfachbindung, R1 = -H, R2 = -O-CO-R23 und R23 = Hydroxyethyl).

- 5 Pyrrolidinylderivate des Furanon können insbesondere gemäß Formel II aufgebaut sein, wobei R1 und R2 zumindest einfach vorliegen, wobei die Bindung von R1 und R2 an jeder freien Kohlenstoffvalenz des Furanonringes erfolgen kann, wobei freie Kohlenstoffvalenzen durch Wasserstoff
- 10 abgesättigt sind, wobei R1 Pyrrolidin, nicht, einfach oder mehrfach substituiert sein kann, insbesondere durch C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, Aryl, -OH, -NH2, wobei Pyrrolidin vorzugsweise über N an den Furanonring gebunden ist, wobei R2 = C1-C10-Alkyl, -Aralkyl, -Aryl, -OH, -NH2 sein kann,
- 15 und wobei vorzugsweise R2 einfach oder zweifach vorliegt und wobei R1 vorzugsweise einfach vorliegt. Beispiele sind: 5-Methyl-4-(1-pyrrolidinyl)-3-[2H]-furanon, 4,5-Dimethyl-3-(1-pyrrolidinyl)-2-[5H]-furanon, 4-Methyl-3-(1-pyrrolidinyl)-2-[5H]-furanon.

20

Icilin ist in Formel III dargestellt. Mit umfaßt sind auch Icilinderivate, welche TRPM8 aktivieren. Dies läßt sich gemäß der Ausführungsbeispiele unschwer testen.

- 25 Allen genannten Stoffen gemeinsam ist, dass sie Kälteempfinden bei Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten auflösen.

Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung kann mit üblichen Hilfs- und Trägerstoffen in fachüblicher Weise

30 galenisch hergerichtet werden, vorzugsweise zur Injektion, i.v., i.p. oder i.m., oder Infusion. Die Dosis liegt vorzugsweise im Bereich von 0,1 bis 5000 mg/kg Körpergewicht, vorzugsweise 1 bis 100 mg/kg Körpergewicht, bezogen

auf einen Tag, eingestellt ist, aufteilbar in 1 bis 10 Gabeinheiten. Es ist zweckmäßig, die Zusammensetzung zur kontinuierlichen oder diskontinuierlich periodischen Gabe über einen Zeitraum von zumindest 2 Wochen, vorzugsweise 5 zumindest 8 Wochen, höchstvorzugsweise zumindest 20 Wochen, herzurichten. Hiermit verbunden ist ein Behandlungsplan, welcher die andauernde Gabe in diesen Zeiträumen vorsieht. Eine diskontinuierliche periodische Gabe erfolgt dadurch, dass in definierten Zeitperioden einmalige Gabe 10 erfolgen. Die Zeiträume können beispielsweise im Bereich von 1 Stunde bis 7 Tage liegen. Eine kontinuierliche Gabe erfolgt mit geeigneten Systemen, welche eine kontinuierlich Freisetzung der Substanz bewirken. In Frage kommen beispielsweise an bzw. in polymere Mikropartikel adsorbierte 15 therapeutische Substanzen, wobei die Substanzen langsam aus den injizierten Mikropartikeln freigegeben werden. Solche Systeme sind in umfangreichen Varianten dem Durchschnittsfachmann bekannt. Zu den kontinuierlich Wirkstoffe abgebenden Systemen gehören auch transdermale Systeme, 20 welche dem Durchschnittsfachmann ebenfalls in umfangreichen Varianten bekannt sind.

Die Erfindung lehrt schließlich auch ein Verfahren zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere Prostata- 25 krebs, wobei einem erkrankten Patienten eine physiologisch wirksame Dosis einer TRPM8 hemmenden Substanz, dargereicht wird.

Im Rahmen der Erfindung ist es möglich, die erfindungsge- 30 mäßigen pharmazeutischen Zusammensetzungen in Verbindung mit lokaler Hypothermie einzusetzen, wobei die zu behandelnden Gewebe vorzugsweise auf eine Temperatur unterhalb 36 °C, insbesondere unterhalb 30 °C, vorzugsweise unterhalb 25 °C,

gekühlt werden. Die Hypothermie kann kontinuierlich oder diskontinuierlich erfolgen. Im Falle der diskontinuierlichen Hypothermie kann diese vor während und/oder nach der Gabe der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung erfolgen.

Definitionen.

- 10 Im Rahmen dieser Beschreibung wird die Bezeichnung TRPM8 für alle humanen Isoformen, bekannt oder neu, auf Aminosäurenbasis, verwendet. Im Rahmen dieser Beschreibung wird TRPM8 auch Trpp8 genannt. Insbesondere sind die durch die in den Sequenzprotokollen offenbarten Nukleinsäuren
- 15 codierten Proteine und Peptide sowie die in den Sequenzprotokollen offenbarten Proteine bzw. Peptide umfaßt, ebenso wie die in den angegebenen Literaturstellen offenbarten TRPM8 Sequenzen bzw. die dadurch codierten Proteine oder Peptide. Mit diesem Begriff mit umfaßt sind auch die
- 20 im Rahmen dieser Beschreibung offenbarten kurzen Sequenzen, welche aus den Isoformen stammen, beispielsweise Immunisierungssequenzen. Weiterhin mit umfaßt sind auch Homologe, wobei die Homologie zumindest 80%, vorzugsweise mehr als 90%, höchstvorzugsweise mehr als 95%, beträgt,
- 25 und zwar berechnet gemäß dem Programm BLAST in der am Anmeldetag aktuellen Fassung. Weiterhin sind Sequenzen umfaßt, welche lediglich Teilsequenzen der explizit offenbarten Sequenzen, beispielsweise ein Exon oder mehrere Exons, oder komplementärer Sequenzen hierzu darstellen,
- 30 mit der Maßgabe, daß diese mit zumindest gleicher Affinität an ein protein- oder peptidspezifisches Zielmolekül, insbesondere die erfindungsgemäß verwendeten Substanzen, binden.

Im Zusammenhang mit erfindungsgemäßen Verwendungen umfassen die Begriffe der Proteine bzw. Peptide neben den Volllängen der offenbarten Sequenzen (siehe auch vorstehender Absatz) auch Teilsequenzen hieraus, und zwar mit einer Mindestlänge von 4 Aminosäuren, vorzugsweise 10 bis 30 Aminosäuren.

Der Begriff der Behandlung umfaßt auch die Prophylaxe.

10

Eine Tumorzelle überexprimiert TRPM8, wenn die Menge gebildeter TRPM8 RNA oder gebildeten TRPM8 Proteins in einer Tumorzelle höher ist als in Normalzellen gleichen Gewebetyps, vorzugsweise vom gleichen Patienten herrührend. Es versteht sich, dass für den Vergleich Tumor/Normal die gleichen Messverfahren verwendet werden. Dem Fachmann sind verschiedene Messverfahren zur Bestimmung von Nukleinsäuren und/oder Proteinen bzw. Peptiden in Zellen bekannt, welche alle anwendbar sind.

20

Als Aktivator ist eine Verbindung oder Substanz bezeichnet, welche entweder die Bildung von TRPM8 fördert oder die Aktivität von gebildetem TRPM8 erhöht, bezogen auf die TRPM8 Aktivität in Abwesenheit des Aktivators. Insofern kann ein Aktivator einerseits eine Substanz sein, welche in der Entstehungskaskade von TRPM8 aktivierend eingreift. Auf der anderen Seite kann ein Aktivator eine Substanz sein, welche mit gebildetem TRPM8 eine Bindung eingeht, und zwar dergestalt, dass weitere physiologische Wechselwirkungen mit endogenen Substanzen erhöht sind, verglichen mit den gleichen Wechselwirkungen, jedoch ohne Bindung des Aktivators. Ein Aktivator erhöht vorzugsweise bei Kontakt mit TRPM8 exprimierenden Zellen erhöht den Transport von

Ionen in eine Zelle hinein oder daraus heraus gegenüber einer Zelle mit gleichem TRPM8 Expressionsniveau, jedoch ohne Kontaktierung mit den Aktivator. Der Ionen-transport läßt sich beispielsweise gemäß der Literaturstelle Peier et al., Cell 108(5):705-715 (2002) bestimmen.

Die galenische Herrichtung einer erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung kann in fachüblicher Weise erfolgen. Als Gegenionen für ionische Verbindungen kommen beispielsweise Na^+ , K^+ , Li^+ oder Cyclohexylammonium infrage. Geeignete feste oder flüssige galenische Zubereitungsformen sind beispielsweise Granulate, Pulver, Dragees, Tabletten, (Mikro-) Kapseln, Suppositorien, Sirupe, Säfte, Suspensionen, Emulsionen, Tropfen oder injizierbare Lösungen (i.v., i.p., i.m.) sowie Präparate mit protrahierter Wirkstoff-Freigabe, bei deren Herstellung übliche Hilfsmittel wie Trägerstoffe, Spreng-, Binde-, Überzugs-, Quellungs-, Gleit- oder Schmiermittel, Geschmacksstoffe, Süßungsmittel und Lösungsvermittler, Verwendung finden. Als Hilfsstoffe sei Magnesiumcarbonat, Titandioxyd, Lactose, Mannit und andere Zucker, Talcum, Milcheiweiß, Gelatine, Stärke, Zellulose und ihre Derivate, tierische und pflanzliche Öle wie Lebertran, Sonnenblumen-, Erdnuss- oder Sesamöl, Polyethylenglycole und Lösungsmittel, wie etwa steriles Wasser und ein- oder mehrwertige Alkohole, beispielsweise Glycerin, genannt. Eine erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung ist dadurch herstellbar, dass mindestens ein erfindungsgemäß verwendeter TRPM8 Aktivator in definierter Dosis mit einem pharmazeutisch geeigneten und physiologisch verträglichen Träger und ggf. weiteren geeigneten Wirk-, Zusatz- oder Hilfsstoffen mit definierter Dosis gemischt und zu der gewünschten Darreichungsform hergerichtet ist.

Im Rahmen der vorstehenden Definition gegenüber dem engen Wortsinn erweiterte Begriffsbestimmungen umfassen auch die bestimmten Begriffe im engen Wortsinn. Ausführungen zu einer Anspruchskategorie sowie zu einem selbstständigen Anspruch abhängige Ansprüche gelten entsprechend auch für Ansprüche anderer Kategorie.

10 Ausführungsbeispiele:

Beispiel 1: Verringerung der Koloniebildungsrate.

HEK293 Zellen wurden nicht transfiziert, mit TRPM8 transfiziert oder mit einem Leervektor transfiziert. Die Zellen wurden in einem Soft Agar Assay (siehe Literaturstelle Shappel et al., Cancer Research 61:497-503 (2001)) eingesetzt. Die stark vereinzelt ausplattierten und im Agar immobilisierten Zellen wachsen dabei dreidimensional und substratunabhängig. Die Koloniebildungsrate erlaubt Rückschlüsse auf die Tumorgenität der Zellen. Je 1000 Zellen wurden in der 6-Lochplatte in 2 ml Softagar-haltigem Medium ausplattiert und nach Erstarren des Agars mit 1 ml Medium (DMEM mit 10% FKS, 2mM Glutamin) überschichtet. Menthol, gelöst in Ethanol, wurde dem Medium in Endkonzentrationen von 10, 100 und 1000 μM zugegeben und jeden fünften Tag substituiert. Als Kontrolle wurde lediglich das Lösungsmittel zugegeben. Nach drei Wochen wurden die Anzahl der gebildeten Kolonien unter dem Mikroskop bestimmt. Die TRPM8 transfizierten Zellen zeigen deutlich geringere Koloniebildung als die Wildtyp Zellen und die mit dem Leervektor transfizierten Zellen.

Beispiel 2: Tumorwachstum in Nacktmäusen.

Humane TRPM8 cDNA wurde in den Expressionsvektor pcDNA3.1
 5 subkloniert und anschließend stabil in HEK293 Zellen
 transfiziert. Die Expression von TRPM8 Protein wurde im
 Western-Blot mit TRPM8-spezifischen Antikörpern nachgewie-
 sen. Für die Untersuchung der Wirkung von Menthol oder
 Icilin auf das Tumorwachstum in vivo wurden je 2 Millionen
 10 HEK293-TRPM8 Zellen in männliche Nacktmäuse subkutan inji-
 ziert oder in der Prostata xenotransplantiert. Die Ver-
 suchsgruppen bestanden aus jeweils 10 Tieren. Die Kon-
 trollgruppen wurden nicht bzw. nur mit DMSO behandelt.
 Behandelt wurden die Tiere durch tägliche intraperitoneale
 15 Applikation von 30 mg/kg Körpergewicht Icilin oder Men-
 thol, gelöst in DMSO, über einen Zeitraum von drei Wochen.
 Das Wachstum der subkutan injizierten Zellen wurde über
 die gesamte Versuchsdauer zweimal wöchentlich vermessen.
 Unmittelbar nach Beendigung der Versuche wurden die Xe-
 20 notranplantate resektiert, gewogen und asserviert. Im Er-
 gebnis zeigten die behandelten Tiere ein deutlich geringe-
 res Tumorwachstum als die nicht behandelten Kontrolltiere.

25 Beispiel 3: TRPM8 Sequenzen

In den Sequenzprotokollen sind TRPM8 Sequenzen, insbeson-
 dere Splice Varianten angegeben. Im Falle der Nukleinsäu-
 resequenzen kodieren diese für Proteine, Peptide oder
 30 Teilsequenzen von Proteinen oder Peptiden, die im Rahmen
 der Erfindung aktivierbar sind. Im Falle der Aminosäuren-
 sequenzen handelt es sich um im Rahmen der Erfindung akti-
 vierbare Proteine, Peptide oder Teilsequenzen von

Proteinen oder Peptiden. Weitere Sequenzen für TRPM8 sind
der eingangs genannten Literatur zu entnehmen.

5

10

15

20

25

30

Patentansprüche:

1. Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen, in welchen TRPM8 überexprimiert ist.
2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Tumorerkrankung Prostatakrebs ist.
3. Verwendung einer Substanz, vorzugsweise nach Anspruch 1 oder 2, welche ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus "Menthol, Menthylderivate, Pyrrolidinyl-Derivate des Furanon, Icilin, Icilin-Derivate und Mischungen dieser Substanzen" zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere zur Behandlung von Prostatakrebs.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Substanz oder die Mischung solcher Substanzen mit üblichen Hilfs- und Trägerstoffen galenisch hergerichtet wird.
5. Pharmazeutische Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen enthaltend eine TRPM8 aktivierende Substanz und/oder eine Substanz, welche ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus "Menthol, Menthylderivate, Pyrrolidinyl-Derivate des Furanon, Icilin,

Icillin-Derivate und Mischungen dieser Substanzen", sowie übliche Hilfs- und Trägerstoffe, vorzugsweise galenisch zur Injektion, i.v., i.p. oder i.m., oder Infusion hergerichtet.

5

6. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5, wobei die Dosis im Bereich von 0,1 bis 1000 mg/kg Körpergewicht, vorzugsweise 1 bis 100 mg/kg Körpergewicht, bezogen auf einen Tag, eingestellt ist, aufteilbar in 1 bis 10 Gabeeinheiten.

10

- ~~7. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 5 oder 6,~~
wobei die Zusammensetzung zur kontinuierlichen oder diskontinuierlich periodischen Gabe über einen Zeitraum von zumindest 2 Wochen, vorzugsweise zumindest 8 Wochen, hergerichtet ist.

15

20

8. Verfahren zur Behandlung von Tumorerkrankungen, insbesondere Prostatakrebs, wobei einem erkrankten Patienten eine physiologisch wirksame Dosis einer TRPM8 hemmenden Substanz, insbesondere eine pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 5 bis 7, dargereicht wird.

25

30

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft die Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen, in welchen TRPM8 überexprimiert ist.

10

15

20

25

30

Formel I

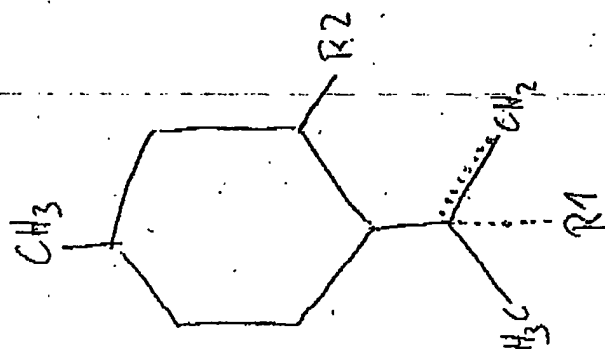


Fig. 1

Formel II

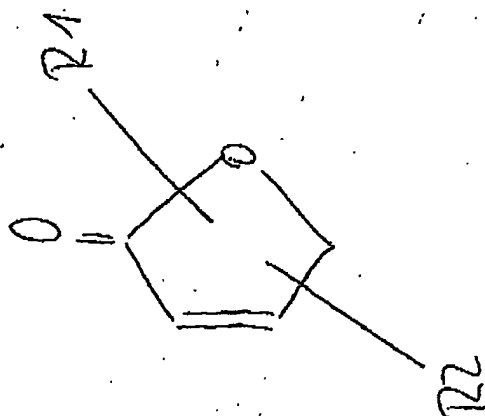


Fig. 2

Formel III

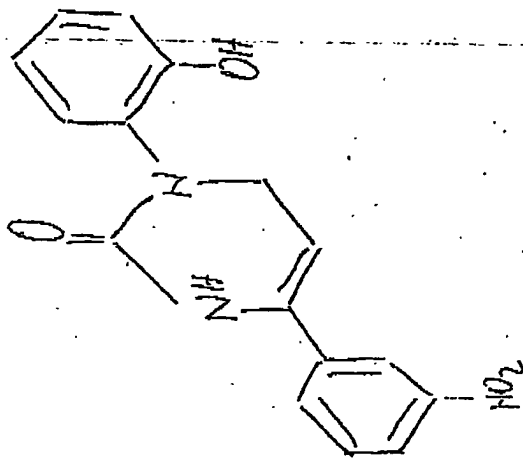


Fig. 3

SEQUENCE LISTING

<110> metaGen Pharmaceuticals GmbH
 <120> Verwendung einer TRPM8 aktivierenden Substanz zur Tumorbehandlung
 <130> MET/DE/0227
 <160> 17
 <170> PatentIn version 3.1

<210> 1
 <211> 1000
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 atccttgggt gaaagaaaat cctgcttgac aaaaaccgtc acttaggaaa agatgtcctt 60
 tcgggcagcc aggtctcagca tgaggaacag aaggaatgac actctggaca gcacccggac 120
 cctgtactcc agcgcgtctc ggagcacaga cttgtcttac agtgaaagcg acttggtgaa 180
 ttttatctca gcaaatttta agaaacgaga atgtgtcttc ttaccaaaag attccaaggg 240
 cacggagaat gtgtgcaagt gtggctatgc ccagagccag cacatggaag gcacccagat 300
 caaccaaatg gagaaatgga actacaagaa acacaccaag gaatttctta ccgagcctt 360
 tgggatatt cagtttgaga cactggggaa gaaagggag tatatacgtc tgtcctgga 420
 cacggacggg gaaatccttt acgagctgct gaccacgac tggcacctga aaacacccaa 480
 cctggtcatt tctgtgaccg ggggcgcdaa gaacttcggc ctgaagccgc gcatgcgcaa 540
 gatcttcagc cggctcatct acatcgcgca gtccaaaggt gcttggatto tcacggggagg 600
 caccattat ggctgatga agtacatcgg ggaggtggtg agagataaca ccatcagcag 660
 gagttcagag gagaatattg tggccattgg catagcagct tggggcatgg tctccaaccg 720
 ggacaccctc atcaggaatt gcgatgctga ggtaccggtg ggacaggagg aggtctgcta 780
 ggtcacatgg aagaaagacc atggcatggg cctgtgycct gaaccctggg gctctgtgat 840
 ggagccagcc agatcatggg gaagtctgcc tttcaaggag tgcccttggg accttaaagg 900
 aattgaaaac aaggatgacg tacctaatta actgctggga aagagttaac aatgaatgtt 960
 ttgttcatta aaatgtgttc tcagcaaaaa aaaaaaaaaa 1000

<210> 2
 <211> 391
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 gccgactact actacctact actactaaat tcacggccgg tcgactgaag acttggcaga 60

```

acagctgctg gtctattcct gtgaagcttg ggggtggaagc aactgtcttg agctggcggg 120
ggagggccaca gaccagcatt tcatcgccca gcctgggggc cagaattttc tttctaagca 180
atgggtatgga gagatttccc gagacaccaa gaactggaag attatcctgt gtctgtttat 240
tatacccttg gtgggctgtg gctttgtatc atttaggtac aaaccaaggc acataatcgt 300
gtgtgagtgt gtgtgccagt gtgtgtacat gcattccacat atgtgtgctc tcatgtaaat 360
gattaaaaag cctggaactt aaaaaaaaaa a 391

```

<210> 3

<211> 2136

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

```

ggactacatt attttcactc taagattgat ccacattttt actgtaagca gaaacttagg 60
agccaagatt ataatgctgc agaggatgct gatcgatgtg ttcttcttcc tgttctctct 120
tgcggtgttg atgggtggcct ttgcgtggcc aggcaagggg tccttaggca gaatgagcag 180
cgctggaggt ggatattccg ttccgtcacc tacgagccct acctggccat gttcggccag 240
gtgcccagtg acgtggatgg taagcctgac ttggctcaga tggaaacagc ttggaggagg 300
catttgctcc ctgaaccaac ccccagggtc gccccggaga ccgcacttca gaagcacgag 360
cgtgaaacgg agtccaacat aacagagtac cactgatgac tttgccact gcaccttcac 420
tgggaatgag tccaagccta ctgtgtgttg agctggatga gcacaacctg ccccggttcc 480
ccgagtggat caccatcccc ctggtgtgca totacatgtt atccaccaac atcctgctgg 540
tcaacctgct ggtcgccatg tttggctaca cgggtgggac cgtccagaga acaatgacca 600
ggtctggaag ttccagaggt acttctctgt gcaggagtac tgcagccgcc tcaatatccc 660
cttcccttcc atcgtcttcc ctacttctca catggtggtg aagaagtgct tcaagtgttg 720
ctgcaaggag aaaaacatgg agtcttctgt ctgctgtttc aaaaatgaag acaatgagac 780
tctggcatgg gagggtgtca tgaaggaaaa ctacctgtc aagatcaaca caaagccaa 840
cgacacctca gaggaaatga ggcacgatt tagacaactg gatacaaac ttaatgatct 900
caagggtctt ctgaaagaga ttgctaataa aatcaaataa aactgtatga actctaattg 960
agaaaaatct aattatagca agatcatatt aaggaatgct gatgaacaat ttgctatcg 1020
actactaaat gagagatttt cagacccctg ggtacatggg ggatgatttt aaatcacct 1080
agtgtgctga gaccttgaga ataaagtgtg tgattgggtt cataacttga gacggatata 1140

```

```

aaggaagaat atttccttta tgtgtttctc cagaatgggtg cctgtttctc tctgtgtctc 1200
aatgcctggg actggagggt gatagtttaa gtgtgttctt accgcctcct ttttccttta 1260
atcttatttt tgatgaacac atatatagga gaacatctat cctatgaata agaacctggt 1320
catgttttac tctgtattg ttattttgtt catttccaat tgattctcta cttttccctt 1380
ttttgtatta tgtgactaat tagttggcat attgttaaaa gtctctcaa ttaggccaga 1440
ttctaaaaca tgotgcagca agaggacccc gctctcttca ggaaaagtgt ttctatttct 1500
caggatgctt cttacctgtc agaggagggtg acaaggcagt ctcttgtctt cttggactca 1560
ccaggctcct attgaaggaa ccacccccat tctaaatat gtgaaaagtc gcccaaatg 1620
caaccttgaa aggcactact gactttgttc ttattggata ctctcttat ttattatttt 1680
tccattaaaa ataatagctg gctattatag aaatttagac catacagaga tgtagaaaga 1740
acataaattg tccccattac cttaaggtaa tcaactgctaa caatttctgg atggtttttc 1800
aagtctattt ttttctatg tatgtctcaa ttctcttca aaattttaca gaatgttato 1860
atactacata tatacttttt atgtaagctt tttcacttag tattttatca aatattgttt 1920
tattatattc atagccttct taaacattat atcaataatt gcataatagg caacctctag 1980
cgattaccat aattttgtc attgaaggct atctccagtt gatcattggg atgagcctct 2040
ttgtgcatga atoctattgc tgtatttggg aaaattttcc aagggttagat tccaataaat 2100
atctatttat tattcaatat taaaaaaaaa aaaaaa 2136

```

<210> 4

<211> 1813

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 4

```

gctagaattt accagtaagc catctgattt cccagtaagc catcctgggc ttttctttgt 60
tgaaagcttt ttgattgctg attttcattt tcttcatttg ttgtttgtct gttcaggctt 120
tgtatttctt cttgattcag gtctttgtaa gttgtacatt tctgggatat ttccatttct 180
tctaggttgt ccaccttggt tgcatataat tggtcatact agcccttctt gatcccttct 240
atttctatgc cctctgttgt aagggtgtct ttctcatttc tgactgtatt tatttgtatc 300
ttcttccttt tcttaaaagg ttgttgatt ttgtttatct tttcaaaaaa ccaactctta 360
ctttcaatga ttttttttcc cattgttttt caactctctt ttttaaaaat gtattttgct 420

```

cttggagttt ttgctctact ttaaacagct tactaaagtc attttactat taacaaatag	480
aaggctcttt caaaagctcc tatagggat acaaaatttc cccatctcct tataaccagaa	540
aacaaagtta tttacaattc atcttaagtc tcttaatgat ctcaagggtc ttctgaaaga	600
gattgctaataaaaatcaaataaaactgtatgaactctaataggagaaaaatctaattatag	660
caagatcata ttaaggaatg ctgatgaaca attttgctat cgactactaa atgagagatt	720
ttcagacccc tgggtacatg gtggatgatt ttaaatacacc ctagtgtgct gagaccttga	780
gaataaagtg tgtgattggg ttcatacttg aagacggata taaaggaaga atatttcctt	840
tatgtgtttc tccagaatgg tgcctgtttc tctctgtgtc tcaatgcctg ggactggagg	900
ttgatagttt aagtgtgttc ttaccgcctc ctttttcctt taatcttatt ttgatgaac	960
acatatatag gagaacatct atcctatgaa taagaacctg gtcattgctt actcctgtat	1020
tgttattttg ttcatttcca attgattctc tacttttccc ttttttgat tatgtgacta	1080
attagttggc atattgttaa aagtctctca aattaggcca gattctaaa catgctgcag	1140
caagaggacc cgcctctctt caggaaaagt gttttcattt ctcaggatgc ttcttacctg	1200
tcagaggagg tgacaaggca gtctcttgct ctcttggaact caccaggtc ctattgaagg	1260
aaccaccccc attcctaaat atgtgaaaag tcgccccaaa tgcaacctg aaaggcacta	1320
ctgactttgt tcttattgga tactcctctt atttattatt ttccoattaa aaataatagc	1380
tggctattat agaaatttag accatacaga gatgtagaad gaacataaat tgtccctatt	1440
accttaaggt aatcactgct aacaatttct ggatggtttt tcaagtctat ttttttcta	1500
tgtatgtctc aattctcttt caaaatttta cagaatgta tcatactaca tatatacttt	1560
ttatgtaagc tttttcactt agtatcttat caaatatgtt tttattatat tcatagcctt	1620
cttaaacatt atatcaataa ttgcataata ggcaacctct agcgattacc ataattttgc	1680
tcattgaagg ctatctccag ttgatcattg ggatgagcat ctttgtgcat gaatcctatt	1740
gctgtatttg ggaaaatttt ccaagggttag attccaataa atatctattt attattcaat	1800
attcaaaaaaa aaa	1813

<210> 5

<211> 986

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

acctggctaa tttttgtatt tttagtagac acgggggttc accatgttgg ccaggctggt	60
---	----

ctcgaactcc	tgacctcagg	tgatttgcc	gcctcggcct	cccaagtgtt	gggattacag	120
gcgtgaacca	cogtgtccgg	cctcagggtt	tcttaattgc	agagcttagt	gtggtatact	180
ttotgaaggt	atctaacagg	gaataggggc	aaacaaatag	ctgcatgctc	ctgtcatagt	240
ccaccagcta	tgatctgctt	aaaacagctg	ctgctgggtc	gccatgtttg	gctatcaggc	300
gggcacogtc	caggagaaca	atgaccaggt	ctggaagttc	cagagggtact	tcctgggtgca	360
ggagtactgc	agccgcctca	atatccctt	ccccttcac	gtcttcgctt	acttctacat	420
ggtggtgaag	aagtgttca	agtgtgctg	caaggagaaa	aacatggagt	cttctgtctg	480
ctgtttcaaa	aatgaagaca	atgagactct	ggcatgggag	ggtgtcatga	aagaaaacta	540
ccttgtcaag	atcaacacaa	aaaccaacga	cacctcagag	gaaatgaggc	atcgatttag	600
acaactggat	acaagatca	tattaaggaa	tgtgatgaa	caattttgct	atcgactact	660
aaatgagaga	ttttcagacc	cctgggtaca	tgggtggatga	ttttaaatca	ccttagtggtg	720
ctgagacctt	gagaataaag	tgtgtgattg	gtttcatact	tgaagacgga	tataaaggaa	780
gaatatctcc	tttatgtgtt	tctccagaat	gggtgctgtt	tctctctgtg	tctcaatgoc	840
tgggactgga	ggttgatagt	ttaagtgtgt	tcttaccgcc	tcctttttcc	tttaattotta	900
tttttgatga	acacatatat	aggagaacat	ctatcttatg	aataagaacc	tgggtcatgct	960
ttaaaaaaaa	aaaaaaaaaa	aaaaaa				986

<210> 6

<211> 929

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 6

ggcacgaggg	tgoccttctc	caccagagac	tcttcctcag	ggaggacttg	gtgaatttta	60
ttcaagcaaa	ttttaagaaa	cgagaatgtg	tcttctttac	caaagattcc	aaggccacgc	120
tcaatgaaat	ccttccttcc	tgtccacacc	atcgtgctta	tcaggagaaa	tgtgtgcaag	180
tgtggctatg	cccagagcca	gcacatggaa	ggcaccacga	tcaaccaaag	tgagaaatgg	240
aactacaaga	aacacaccaa	ggaatttcc	accgacgcct	ttggggatat	tcagtttgag	300
acactgggga	agaaagggaa	gtatatacgt	ctgtcctgcg	acacggacgc	ggaaatcctt	360
tacgagctgc	tgaccacgca	ctggcacctg	aaaacaccca	acctgggtcat	ttctgtgacc	420
gggggcgcga	agaacttcgc	cctgaagcgc	cgcacgcgca	agatcttcag	cgggtctcgc	480

tacatcgcg	agtcctaaagg	tgcttggatt	ctcacgggag	gcacccatta	tgcccgatga	540
agtacatcgg	ggaggtggtg	agagataaca	ccatcagcag	gagttcagag	gagaatattg	600
tgccattgg	catagcagct	tggggcatgg	tctccaaccg	ggacaccctc	atcaggaatt	660
gcgatgctga	ggtaaccggtg	ggacaggagg	aggtctgcta	ggtcacatgg	aagaaagacc	720
atggcatggg	cctgtggcct	gaacccctggg	gctctgtgat	ggagccagcc	agatcatggg	780
gaagtctgcc	tttcaaggag	tgcccttggg	accttaagg	aattgaaaac	aaggatgacg	840
tacctaatta	actgctggga	aagagttaac	aatgaatggt	ttgttcatta	aaatgtgttc	900
tcagcaatct	caaaaaaaaa	aaaaaaaaa				929

<210> 7

<211> 735

<212> DNA

<213> homo sapiens

<400> 7

ttggccttca	gagcaagaa	ggagatctgc	atctctacac	ccagatggag	aatcacccctc	60
actttgcagc	tgaaggcaat	gtggagtga	tgctatttta	taccatttat	ttttattatc	120
tcttcacaac	aaacctacta	agtcaatggt	atgattccat	gctgcaaca	aggaaattaa	180
gcctcagcaa	tcctgatatt	ctggaacaga	acaatccttt	aagagatttg	gtattgaaga	240
ccttgttggg	aatggatcag	acattgccca	gaccactgtc	cagacccaac	actggaataa	300
cccaggagag	cttcgtgctt	acctcccatc	ggcggtcatt	ggtgaaaatc	tcatcattgg	360
ctaagtccag	ctggttccac	tcagcagaa	gottcagctg	cccattccag	ttatccttgt	420
cttgcctcact	ggtgctgaag	gctgtgagag	ggcaggaaaa	gactcaactc	accaaagggt	480
cagaaataag	agtgagaacc	attcagtgtg	gccaattatc	agagctgttt	atcacagatc	540
gtattttgttc	ttaaatggta	tctaccagaa	gaagacagcc	agctttcgat	actaacaac	600
cacaatggaa	gatggccgta	tttatcattg	ccttttagcat	gttaaagggt	acataccaca	660
ttgacctggg	cagaagcatt	cctgatgtgt	tggaaaaatt	aagagaaata	acagttcttt	720
ggcaataaaa	aaaaa					735

<210> 8

<211> 84

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 8

Gly Leu Gln Ser Lys Glu Gly Asp Leu His Leu Tyr Thr Gln Met Glu.
 1 5 10 15

Asn His Pro His Phe Ala Ala Glu Gly Asn Val Glu Leu Met Leu Phe
 20 25 30

Tyr Thr Ile Tyr Phe Tyr Tyr Leu Phe Thr Thr Asn Leu Leu Ser Gln
 35 40 45

Cys Tyr Asp Ser Met Leu Gln Thr Arg Lys Leu Ser Leu Ser Asn Pro
 50 55 60

Asp Ile Leu Glu Gln Asn Asn Pro Leu Arg Asp Leu Val Leu Lys Thr
 65 70 75 80

Leu Leu Glu Met

<210> 9
 <211> 249
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 9
 gtaccggtgg gacaggagga ggtctgctag gtcacatgga agaaagacca tggcatgggc 60
 ctgtggcctg aaccctgggg ctctgtgatg gagccagcca gatcatgggg aagtctgcct 120
 ttcaaggagt gcctttggga ccttaaagga attgaaaaca aggatgacgt acctaatata 180
 ctgctgggaa agagttaaca atgaatgttt tgttcattaa aatgtgttct cagcaaaaaa 240
 aaaaaaaaaa 249

<210> 10
 <211> 115
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 10
 gtacaaacca aggcacataa tcgtgtgtga gtgtgtgtgc cagtgtgtgt acatgcatcc 60
 acatatgtgt gctctcatgt aaatgattaa aaagcctgga acttaaaaaa aaaaa 115

<210> 11
 <211> 127
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 11
 gtaagcctga cttggctcag atggaaacag cttggaggag gcatttgctc cctgaaccaa 60
 cccccagggc tgccccggag accgcacttc agaagcacgc gcgtgaaacg gaggccaaca 120
 taacaga 127

<210> 12

<211> 571

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

gctagaattt accagtaagc catctgattt occagtaagc catcctgggc ttttctttgt 60
 tgaaagcttt ttgattgctg attttcattt tcttcatttg ttgtttgtct gtccaggctt 120
 tgtattttctt cttgattcag gtctttgtaa gttgtacatt tctgggatat ttccatttct 180
 tctaggttgt ccaccttggt tgcataataa tgttcatact agccccctct gatcccttct 240
 aatttatgc cctctgttgt aagggtgtct tcttcatttc tgactgtatt tatttgtatc 300
 ttcttctttt tcttaaaagg ttgtttgatt ttgtttatct tttcaaaaaa ccaactctta 360
 ctttcaatga ttttttttcc cattgtttt caactctctt ttttaaaaaa gtattttgct 420
 cttggagttt ttgctctact ttaaacagct tactaaagtc attttactat taacaaatac 480
 aaggctcttt caaaagctcc tataggggaat acaaaatttc cccatctctt tataaccagaa 540
 aacaaagtta tttaacaatc atcttaagtc t 571

<210> 13

<211> 271

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 13

acctggctaa tttttgtatt ttttagtagac acgggggttc accatgttgg ccaggctggg 60
 ctccaactcc tgacctcagg tgatttgctt gcctcggcct cccaagtgtt gggattacag 120
 gcgtgaacca ccgtgtccgg cctcagggtt tcttaattgc agagcttagt gtggtatact 180
 ttctgaaggt atctaacagg gaataggggc aaacaaatag ctgcatgctc ctgtcatagt 240
 ccaccagcta tgatctgctt aaaacagctg c 271

<210> 14

<211> 35

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 14

ctgcctttct ccaccagaga ctcttctca gggag

35

<210> 15

<211> 46

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 15

gctcaatgaa atccttccctt cctgtccaca ccacgtgct tatcag

46

<210> 16

<211> 255

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 16

gtaccggtgg gacaggagga ggtctgctag gtcacatgga agaaagacca tggcatgggc

60

ctgtggcctg aaccctgggg ctctgtgatg gagccagcca gatcatgggg aagtctgcct

120

ttcaaggagt gcctttggga ccttaaagga attgaaaaca aggatgacgt acctaattaa

180

ctgctgggaa agagttaaca atgaatgttt tgttcattaa aatgtgttct cagcaatctc

240

aaaaaaaaaaaa

255

<210> 17

<211> 128

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

tcagggtttc ttaattgcag agcttagtgt ggtatacttt ctgaaggat ctaacaggga

60

ataggggcaa acaaatagct gcatgctcct gtcatagtcc accagctatg atctgcttaa

120

aacagctg

128

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.